

# Stond de wieg van de moderne biotechnologie in Vlaanderen?

J. BURY  
R.DEKEYSER

## 1. Inleiding

### Vlaanderen: een geschikte voedingsbodem

Van New York tot Borobudur staat Vlaanderen bekend als het land van de 1001 streekbieren. Deze wereldwijde vermaardheid dankt Vlaanderen aan zijn roemrucht biotechnologisch verleden, dat teruggaat tot zo een 300 jaar voor onze jaartelling toen de Oude Belgen voor het eerst bier brouwen. De huidige Vlaamse trappist-bieren kunnen zonder meer beschouwd worden als "levende" fossielen van een rijke geschiedenis van ambachtelijke biotechnologie die zich vooral sinds de middeleeuwen in deze streken ontwikkelde. Dergelijke ambachtelijke biotechnologische hoogstandjes "avant la lettre", zoals de bierbrouwerij, de streekgebonden kaasbereiding en het roten van vlas langs de oevers van de Leie, werden in die tijd overgeleverd van vader op zoon. Zo had elk Vlaams dorp nog niet zo lang geleden zijn plaatselijke artisanale brouwerij. Ten tijde van de industriële revolutie mondden ook deze lokale ambachten uit in een min of meer gestructureerde industriële activiteit, waar de moderne biotechnologie stilaan zijn intrede deed.

De eerste industriële successen werden uiteraard geboekt met behulp van de klassieke biotechnologie (fermentatie), meer bepaald in de brouwerijsector (Interbrew, Alken-Maes, Moortgat ...), de voedingssector (Citrique BeIge, Algist-Bruggeman, Puratos ...) en de milieusector (OWS, Seghers Engineering, Biotim, .... cfr Intermezzo 1 en foto's).

Een typisch voorbeeld uit deze reeks is het Tiense bedrijf "Citrique BeIge" (Hoffman LaRoche) dat, gebruik makend van grootschalige schimmelculturen, sinds zijn oprichting in 1920 is opgegroeid tot de derde grootste wereldproducent van citroenzuur.

Geleidelijk aan deden ook modernere biotechnologische technieken zoals de bioconversie hun intrede. Een aantal van de eerste toepassingen terzake, met name het aanwenden van al dan niet geïmmobiliseerde enzymen (glucoamylase, glucose-isomerase ...) voor de degradatie van zetmeel tot oligo- en monosukkers wordt nog steeds op grote schaal industrieel uitgebraat door het Aalsterse bedrijf Amylum, de grootste tarwezetmeelproducent ter wereld (foto). In het domein van de bioconversie werkte o.m. de Gentse universitaire groep o.l.v. de microbioloog Eric Vandamme (foto) een aantal succesrijke onderzoeksprojecten uit die tot industriële uitbating leidden. Zo werd in samenwerking met het fijnchemicaliënbedrijf Omnichem (intussen in handen van het Japanse Ajinomoto) een enzymatisch proces ontwikkeld voor de bioconversie van looizuur tot galluszuur. Daarbij werd het tannase ingezet, afkomstig van micro-organismen die in staat zijn looizuur aan te wenden als enige koolstofbron en het nagenoeg kwantitatief om te zetten tot galluszuur. Dit eindproduct vindt als intermediair syntheseproduct toepassing in de farmaceutische sector, o.m. voor de synthese van het welbekende antibacterieel geneesmiddel trimethoprim. Andere geïndustrialiseerde successen van deze groep betreffen onder meer de enzymatische omzetting van glucose tot gluconzuur en van glucose tot mannitol (foto fermentor).

### Intrede van de moderne biotechnologie

Intussen was sinds de jaren 50-60 in de Vlaamse universitaire middelen een opmerkelijke interesse gegroeid voor de moleculaire biologie en genetica, die de grondslag zouden vormen voor wat nu de "moderne biotechnologie", hetzij de recombinant DNA-technologie, wordt genoemd. Met tenoren zoals Walter Fiers, Jeff Schell, Marc Van Montagu, Desiré Collen en vele anderen, mag zonder schroom gesteld worden dat Vlaanderen een ereplaats verdient rond de wieg van de recombinant

DNA-technologie, zowel op het vlak van het fundamenteel onderzoek als op het vlak van de vertaling van deze fundamentele kennis naar de industriële toepassingen. Op een aantal van deze realisaties zal in het hiernavolgend artikel dieper worden ingegaan.

## 2. De academische wereld

### Walter Fiers

#### Het eerste gen

Reeds vanaf het begin van zijn overvolle en succesrijke loopbaan, was Walter Fiers - een ingenieur in de scheikunde en landbouwwetenschappen afgestudeerd aan de Gentse universiteit in 1954 - geboeid geraakt door de moleculaire structuur van DNA, de biologische expressie ervan en zijn functionele organisatie. De eerste noemenswaardige bijdrage van Walter Fiers in de geschiedenis van de moderne biotechnologie was zijn gezamenlijke publicatie met Robert Sinsheimer van het "California Institute of Technology" in het roemrijke Journal of Molecular Biology in 1962. Daarin beschreef hij zijn experimenten die aantoonde dat het genoom van de bacteriofaag  $\phi X174$  een cirkelvormige macromolecule is, bestaande uit een ononderbroken DNA-ketting. Met deze publicatie werd voor het eerst in de geschiedenis van het DNA onomstotelijk de fysische cirkelvormigheid van een DNA-genoom aangetoond. Later, wanneer het d.m.v. elektronenmicroscopische technieken mogelijk werd om DNA-moleculen in een cel te "zien", bleek dat cirkelvormig DNA in de natuur een wijd verspreid fenomeen is dat voorkomt in bacteriën, virussen, celorganellen enz. (kan redactie hier een dergelijke foto voorzien?)

Na deze eerste stimulerende wereldprimeur startte Walter Fiers bij zijn terugkeer in België in 1962 een voor die tijd uiterst ambitieus en volgens veel van zijn tijdgenoten niet realiseerbaar project. Hij wou namelijk de chemische structuur ontrafelen van een volledig virusgenoom, met als doel de biologische eigenschappen van dit genoom te kunnen verklaren op basis van zijn nucleotidesequentie. De keuze viel daarbij op de RNA-bacteriofaag MS2. In de huidige tijden, waar projecten lopen zoals de volledige sequencerings van het menselijk genoom (HUGO) is het voor de jonge biotechnoloog van vandaag nog amper te vatten welke enorme inspanningen en technologische hoogstandjes de groep van Walter Fiers heeft geleverd om - wars van alle moderne middelen zoals restrictie-enzymen en kloneringskits - de eerste nucleotidesequentiebepalingen te kunnen uitvoeren. Dit kan geïllustreerd worden door het feit dat het bijna 6 jaar intensief speurwerk vergde om de eerste 15 nucleotiden in de juiste volgorde in kaart te kunnen brengen. Daartoe diende de groep van Walter Fiers splinternieuwe technologieën te ontwikkelen zoals tweedimensionele elektroforese van polynucleotiden, een techniek die vandaag nog steeds frequent wordt toegepast.

Het onderzoek maakte een grote sprong voorwaarts toen een technologie ter beschikking kwam om RNA op reproduceerbare wijze enzymatisch te klieven en de RNA-fragmenten te isoleren via polyacrylamide gelelektroforese. De volgehouden inspanningen werden uiteindelijk beloond toen Walter Fiers en zijn medewerkers in 1972 voor het eerst in de DNA-geschiedenis de nucleotide-sequentie van een volledig gen konden publiceren in het vooraanstaand tijdschrift "Nature". Dit artikel bracht in die tijd de wetenschappelijke gemeenschap in algemene opwinding.

Voor het eerst konden daadwerkelijk een aantal biologische fenomenen verklaard worden op basis van de chemische structuur van het genetisch materiaal, zoals het gebruik van de degeneratieve genetische code, translationele controlemechanismen zoals start- en stopcodons, specificiteit van mutagenen, enz. Een ophefmakende - en zoals dikwijls het geval is totaal onverwachte - bevinding was dat aan beide RNA-uiteinden grote onvertaalde gebieden van respectievelijk 129 en 176 nucleotiden voorkwamen. De moleculair biologen van toen waren ten stelligste verrast dat de start- en stopcodons niet samenvielen met het fysisch begin- en eindpunt van dit MS2-RNA.

In 1976 bracht Walter Fiers de wetenschappelijke gemeenschap opnieuw in beroering door de publicatie, opnieuw in "Nature", van de sequentie van het volledig MS2-genoom. Het "onmogelijke" was dus toch bewaarheid geworden. Met deze wereldprimeur kon deze Gentse onderzoeker voor het eerst aantonen hoe een chromosoom is samengesteld uit zijn verschillende genen, en hoe uit de chemische genoomstructuur de primaire structuur van de virus-gecodeerde proteïnen kon worden afgeleid. Deze studies openden een meer fundamentele discussie over de frequenties van codongebruik, waarbij Fiers postuleerde dat genen die coderen voor hoog abundante en zeldzame eiwitten een significant verschil tonen in het gebruik van de gedegenereerde codons. Deze hypothese werd in latere studies met ondermeer *E. coli* herhaaldelijk bevestigd. Opvallend in dit en later werk is dat de soms moeizame ontrafeling van de chemische structuur van genen en genomen voor Walter Fiers nooit een doel op zich is geweest doch slechts een middel om te komen tot een dieper inzicht in de moleculaire mechanismen die aan de grondslag liggen van alle leven op aarde.

Een doorbraak in deze geboorteperiode van de recombinant DNA-technologie kwam er in 1976 met de ontwikkeling van de technologie om eucaryoot RNA om te zetten tot DNA. In het vakjargon heet dit het "kopiëren" van RNA naar het zogenaamd copy DNA (of cDNA). Deze methode maakte gebruik van de aanwezigheid in mRNA van een 3'-poly(A)-staart, die hybridisatie toelaat met een oligo-dT primer (intermezzo? Of verwijzen naar artikel over PCR: hybridisatie). Aangezien virale RNA-genomen geen 3'-poly(A)-staart dragen, kon deze techniek niet rechtstreeks op MS2 worden toegepast. Daarom ontwikkelde Walter Fiers een systeem dat het mogelijk maakt aan het 3'-uiteinde van het virus-RNA een poly(A)staart vast te "kleven". Dit maakte het hem mogelijk een kopie van het MS2-RNA te kloneren. Aldus konden de respectievelijke virale genen individueel tot expressie gebracht worden, zodat de individuele regulatie van deze expressie in detail kon bestudeerd worden.

Dit pionierswerk van Walter Fiers heeft een doorslaggevende impact gehad op de studie van de moleculaire en biologische eigenschappen van vele humane, dierlijke en plant RNA-virussen. De kloneringstechniek maakte het immers niet alleen mogelijk om de exacte primaire structuur van elk gen te achterhalen, doch opende tevens de weg naar de individuele expressie van virale genen, de plaatsgerichte mutagenese ervan en de speurtocht naar relevante B- en T -celepitopen. Deze technieken worden ook vandaag nog alom toegepast (cfr. bvb. het huidige onderzoek - dus zo een 15 jaar later - op het AIDS-verwekkend HIV -virus).

### **Het eerste oncogen**

Gezien kanker een proces is van ongebreidelde celproliferatie, wat dus het gevolg dient te zijn van een uit de hand gelopen genexpressie, wekte dit fenomeen de interesse van Walter Fiers. Daarom startte hij in 1973 een project op een ander virus, nl. het "Simian Virus 40" of SV40. Dit virus dat voor het eerst werd ontdekt als een verontreiniging in de eerste poliomyelitis-vaccins, veroorzaakte alomverspreide opschudding toen zijn kankerverwekkende natuur bekend werd. SV40 is een klein DNA-virus dat op sommige apecellen (simian) kan gekweekt worden en dat na inspuiting bij pasgeboren proefdieren (bvb. hamsters) kanker veroorzaakt. Walter Fiers wilde SV40 dan ook aanwenden als een model om genexpressie en vnl. de regulatie ervan te bestuderen om aldus het kankerverwekkend potentieel van SV40 moleculair te kunnen ontrafelen.

Opnieuw werd het probleem benaderd vanuit zijn structuur-functie relatie en werden alle middelen ingezet om de chemische structuur van SV40 te achterhalen. Aangezien indertijd geen directe DNA-sequentiemethode beschikbaar was, werd het DNA vertaald naar cRNA d.m.v. RNA-polymerase en werd de toen gangbare RNA-sequentiemethode van Sanger ingezet om de primaire structuur van het SV<sub>40</sub>-genoom te achterhalen.

De daartoe ontwikkelde technologie en de eerste resultaten van dit werk werden aan de wetenschappelijke gemeenschap voorgesteld op de "EMBO-workshop rond restrictie-enzymen en DNA-sequencing" die Walter Fiers samen met Marc van Montagu en Jeff Schell in 1974 in een tot congrescentrum omgebouwd middeleeuws klooster te Drongen (Gent) organiseerde. Dat Walter Fiers toen reeds internationale faam van formaat genoot mag blijken uit het publiek en de sprekers die voor

deze workshop naar Gent afdaalden. Daaronder bevonden zich tal van latere Nobelprijswinnaars in het domein van de biotechnologie zoals Walter Gilbert, Fred Sanger, Werner Arber, Daniel Nathans en andere grote bekenden zoals Howard Goodman, Walter Doerfler, Richard Roberts, Herbert Boyer, Heinz Schaller, Sherman Weissman, Ray Wu en vele anderen.

Het onderzoek van Fiers kreeg een flinke duw in de rug toen de rechtstreekse DNA-sequentiemethodes, ontwikkeld door Fred Sanger enerzijds en door Maxam en Gilbert anderzijds, ter beschikking kwamen. Een jaar later was dan ook de volledige SV40 genoomsequentie bekend. Opnieuw haalden Walter Fiers en zijn medewerkers "Nature" met deze wereldprimeur. Dat dit werk in die tijd een "hot topic" was kan geïllustreerd worden door het feit dat de race naar de SV40-genoomsequentie in ex aequo eindigde. Immers, dezelfde week waarin het artikel van Walter Fiers in "Nature" gepubliceerd werd, verscheen de volledige SV40-DNA-sequentie van de hand van Sherman Weissman van de universiteit van Yale in het al even geëerde Amerikaanse vaktijdschrift "Science".

Uitgaande van deze structuur en de daarop volgende expressiestudies konden opnieuw een reeks biologische fenomenen afgeleid worden. Zo kon bijvoorbeeld aangetoond worden dat de mRNA's die coderen voor de structurele proteïnen van het SV40-virus, niet colineair waren met de genomische DNA-sequentie. Deze studies werden gepubliceerd op het ogenblik dat het fenomeen van de RNA "splicing" gelijktijdig door verschillende groepen werd ontdekt. De opheldering van de SV40-DNA structuur heeft een enorme impact gehad op de rDNA-technologie in het algemeen. SV40-DNA elementen, zoals bvb. de late SV40-promoter, worden immers nog steeds intensief gebruikt zowel in fundamenteel onderzoek, als in industriële toepassingen voor de klonering en de expressie van heterologe genen in eucaryote cellen.

Vermoedelijk een van de meest ophefmakende resultaten van dit onderzoek was wel de opheldering van de totale structuur van het T-antigen. Aangezien dit gen tot uitdrukking komt in alle SV40-geïnduceerde tumoren, en de expressie van dit gen vereist is voor de initiatie en het in stand houden van de getransformeerde toestand van een kankercel, wordt het T-antigen algemeen beschouwd als het eerste oncogen waarvan de structuur werd opgehelderd. Ook deze wereldprimeur kon Walter Fiers dus aan zijn indrukwekkend palmares toevoegen.

### **Interferonen en interleukines**

Terwijl de vorige studies er voornamelijk op gericht waren de moleculaire grondslag van oncogeniciteit en celtransformatie beter te begrijpen, legde Walter Fiers zich het laatste decennium vooral toe op de ontwikkeling van potentiële kankertherapieën. Op basis van een aantal bemoedigende Amerikaanse en Zweedse klinische resultaten, leek interferon een veelbelovende molecule te zijn, doch de gigantische zuiveringsprocedure stond grootschalige klinische testen in de weg. In die tijd dienden immers de witte bloedcellen van zo een 100.000 liter bloed verzameld te worden om ook maar 1 gram van dit goedje te kunnen bereiden. Daarom besloot Walter Fiers het interferon te kloneren. De zaak leek echter complexer dan aanvankelijk was gedacht, aangezien er eigenlijk drie belangrijke vormen van interferon bestaan :  $\alpha$ ,  $\beta$ , en  $\gamma$ -interferon.

Terwijl Charles Weismann van de universiteit van Zurich begin 1980 in het Park Plaza Hotel in Boston de succesrijke klonering van het  $\alpha$ -interferon aan de pers voorstelde, lag het artikel van Walter Fiers over de klonering van het  $\beta$ -interferon zowat op de drukpersen van "Nature". Ook de Japanse groep van het Cancer Institute in Tokyo onder leiding van Tadatsugu Taniguchi had intussen het DNA, dat codeert voor het  $\beta$ -interferon, gekloneerd en chemisch gekarakteriseerd.

In het kader van deze realisatie werden door Fiers en medewerkers opnieuw een aantal nu als standaardprotocol bestempelde technieken ontwikkeld. Zo is er bijvoorbeeld de techniek van de *in vitro* "capping" van mRNA. Teneinde snel te kunnen nagaan of een gekloneerd eucaryoot cDNA-gen codeert voor het gezochte proteïne met de gewenste biologische activiteit, ontwikkelde Walter Fiers met zijn ploeg de techniek van de *in vitro* synthese van "gecapte transcripten". Alhoewel de translatie van mRNA in pro- en eukaryoten fundamenteel verschillend en dus niet compatibel is, kon Fiers bij gebruik van een procaryoot transcriptiesysteem, in combinatie met synthetisch "gecapte primers", in

in vitro een "eucaryoot-achtig" mRNA bekomen dat in een volwaardig eucaryoot systeem, zoals bijvoorbeeld *Xenopus*-eicellen kon vertaald worden naar het overeenkomstig proteïne (intermezzo?). Van dit proteïne kan vervolgens de biologische activiteit getest worden. Dit pionierswerk van Walter Fiers wordt nog steeds veelvuldig toegepast. Teneinde het gekloneerde interferon in bacteriën tot expressie te kunnen brengen, ontwikkelde de groep van Walter Fiers een efficiënt en reguleerbaar expressiesysteem in *E. coli*, gebaseerd op de sterke linkpromoter van de bacteriofaag  $\lambda$  onder controle van een temperatuurgevoelige repressor, gekloneerd op een multicopy plasmide. Met een aantal van deze constructen konden de tot expressie gebrachte proteïnen soms tot 30% uitmaken van de totale proteïne inhoud van de cel. (intermezzo?, foto van *E. coli*?)

Intussen was het stilaan duidelijk geworden dat niet  $\alpha$ - en  $\beta$ -IFN, maar IFN- $\gamma$  potentiële antikanker-eigenschappen zou bezitten. Daarom richtte Walter Fiers zijn onderzoek op deze molecule, wat al gauw leidde tot de klonering, karakterisering en expressie van humaan IFN- $\gamma$  in *E. coli* en later ook in Chinese hamster ovariumcellen (intermezzo?). Dit laatste systeem leverde een volledig geglycosyleerde molecule op die niet kon onderscheiden worden van het natuurlijke IFN- $\gamma$ . Dit werk opende dan ook de weg naar de eerste klinische studies die in samenwerking met het Amerikaans biotechbedrijf Biogen werden uitgevoerd. Deze nauwe samenwerking met Biogen leidde zelfs tot de tijdelijke oprichting te Gent van het Biogen-filiaal Biogent.

Een tweede belangrijk lymfokine waar Walter Fiers intensief naar speurde was de T-cel groeifactor interleukine-2 (IL2). Dit lymfokine werd ook getipt als een potentieel antikankermiddel, aangezien het de "killer" T-cellen activeert, wat uiteindelijk via een aantal mediators leidt tot het vernietigen van de kankercel (intermezzo?). Vier groepen waaronder deze van Walter Fiers, Tadatsugu Taniguchi (Tokyo) en Robert Gallo (NIH) kondigden nagenoeg gelijktijdig de klonering aan van het menselijk IL2. De eerste klinische onderzoeken naar de antikanker-eigenschappen van IL2 en IFN- $\gamma$  waren zo teleurstellend dat Fiers I interesse zich uitbreidde naar een recent ontdekte molecule met een onmiddellijk en selectief dodelijk (necroserend) effect voor kankercellen. Deze molecule, Tumor Necrosis Factor (TNF) genoemd, was veelbelovend daar ze althans in cultuuromstandigheden, de gezonde cellen ongemoeid liet.

Aanvankelijk loste deze wondermolecule zijn hooggespannen verwachtingen in. Fiers boekte immers veelbelovende resultaten omtrent de kankercel-specifieke cytotoxische activiteit van TNF in celcultuur, weefselcultuur en orgaancultuur. Snel kon worden overgegaan tot klinische *in vivo* evaluatie op experimentele proefdiermodellen, waarbij Fiers opnieuw baanbrekend werk verrichtte. De eerste resultaten waren hoopgevend. Voornamelijk wanneer TNF lokaal werd toegediend werd een gunstig antitumoraal effect bekomen met hoge overlevingskansen. De ontzuivering volgde echter toen bij de systemische toediening van TNF bleek dat deze molecule sterk toxisch is en dus slechts beschikt over een uiterst nauwe therapeutische index. In het lab van Walter Fiers werden de volgende jaren dan ook gedomineerd door het fundamenteel onderzoek naar het werkingsmechanisme van deze molecule, teneinde deze bijna paradoxale effecten te kunnen verklaren.

Een eerste belangrijke stap voorwaarts was de combinatietherapie van TNF met IFN- $\gamma$ . Walter Fiers was de eerste om deze vandaag nog steeds meest hoopvolle combinatietherapie voor de behandeling van kanker voor te stellen en te ontginnen. De verklaring voor deze keuze vinden we in de fundamentele wijsheid dat een kankercel, die door TNF wordt aangevallen het voor haar dodelijke (cellyserende) gif tracht te neutraliseren door de aanmaak van eiwitten die het TNF op non-actief zetten. IFN- $\gamma$  heeft nu precies de eigenschap deze eiwitsynthese te blokkeren, zodat TNF ongemoeid zijn gang kan gaan. Een tweede doorbraak kwam uit het biomedisch, celbiologisch en moleculair biologisch onderzoek aangaande de interactie van TNF met zijn specifieke celreceptor. Al gauw bleek dat ook gezonde cellen deze receptor aan hun oppervlak tot uitdrukking brengen, wat mogelijk de toxiciteit van TNF kon verklaren. Fiers kon aantonen dat er voor TNF twee verschillende en onafhankelijke receptoren bestaan: een kleine en een grote. Met minutieus *in vitro* en *in vivo* werk, en zich baserend op de verschillende effecten van muis- en mens-TNF, konden Fiers en zijn medewerkers aantonen dat TNF zijn toxiciteit voornamelijk uitoefent via de grote receptor. Immers,

indien enkel de kleine receptor werd aangeslagen konden de tumorcellen selectief vernietigd worden. Het onomstotelijk bewijs, dat de toxische en antitumorale eigenschappen van TNF kunnen gescheiden worden, leverde Fiers met de ontwikkeling van een specifiek proefdiermodel. In deze proefdieren werd eerst tolerantie (gewenning) opgewekt door herhaaldelijke toediening van kleine dosissen TNF. Aldus werd een proefdier bekomen dat ongevoelig is voor de toxische effecten van TNF, zodat nu de strikt antitumorale eigenschappen van TNF konden getest worden. De tolerante proefdieren werden vervolgens besmet met melanomen. De daaruit ontstane kankers konden in 80% van de gevallen worden genezen met de combinatietherapie met TNF en IFN- $\gamma$ .

Recent onderzoek van de groep onder leiding van Walter Fiers heeft geleid tot een verklaring voor het antitumorale werkingsmechanisme van TNF (verstoring van het elektronentransport in mitochondriën, met de vorming van zuurstofradicalen en dus celdood tot gevolg), de wisselwerking met IFN- $\gamma$  en de toxische eigenschappen van TNF via zijn "grote receptor" (inductie van IL1). Wat dit laatste betreft werden op proefdiermodellen beloftevolle in vivo resultaten geboekt inzake de onderdrukking van de toxische activiteit van TNF met anti-IL1.

Gezien deze merkwaardige opeenvolging van wereldprimeurs is het dan ook niet verwonderlijk dat Walter Fiers met menige internationale wetenschappelijke prijs gelauwerd is geweest. Voorbeelden zijn legio : de medaille van de Société de Chimie Biologique (Frankrijk, 1971), de Franqui-prijs (België, 1976), de titel van Doctor Honoris Causa (KU Leuven-België, 1978), de Jenkins Memorial Lecture (U.K., 1980), de Dr. Beijerinck Gold Medal for Virology (Nederland, 1986), de aanstelling tot Baron door de Koning der Belgen (1990) en recent de Robert Koch Prize (Duitsland, 1991) die hij samen met de Japanner Tadatsugu Tanigushi (cfr. IFN-f $\beta$ , IL2) in ontvangst mocht nemen. In 1989 ontving Walter Fiers als eerste Belg ook de "Artois-Baillet Latour"-prijs, die wegens het hoge bedrag vaak de Belgische Nobelprijs wordt genoemd.

Tenslotte dient de uitstraling geciteerd te worden die is uitgegaan van Walter Fiers. Vele voortvarende wetenschappers die hun opleiding genoten in het laboratorium van Walter Fiers, zoals Jozef Merregaert (U.I.A.), Guido Volckaert (K.U.Leuven), Geert Leroux-Roels (R.U.G.), enz. leiden nu een moleculair biologisch labo aan een van de Vlaamse Universiteiten (Intermezzo?). Anderen, zoals Hugo van Heuverswyn, André Van De Voorde en Danny Huylebroeck (Innogenetics), René Devos (Roche Research Gent), enz. zijn verantwoordelijk voor de R&D-afdeling van een aantal Vlaamse biotechnologiebedrijven, of nemen centrale posities in in bedrijven zoals Genentech, Smith Kline Biologicals, Plant Genetic systems, Citrique Belge, Unilever,... Ook langs deze multi-pele wegen heeft Walter Fiers dus zijn bijdragen geleverd tot de successen van de moderne biotechnologie.

Dit verhaal dat wegens plaatsbeperking slechts een beperkt aantal facetten van het internationaal gereputeerde vorsingswerk van Walter Fiers belicht, leert ons dat volgehouden investering in fundamenteel wetenschappelijk onderzoek, gecombineerd met het professionalisme, de onstuitbare nieuwsgierigheid en de enthousiaste inzet van deze vorser van wereldformaat uiteindelijk uitmondt in de kennis die noodzakelijk is om wereldproblemen zoals kanker te kunnen oplossen.

## **Jeff Schell en Marc Van Montagu**

### **De bodembacterie *Agrobacterium tumefaciens***

Als de sector van de plantenbiotechnologie momenteel zo'n succes kent, dan is dit in belangrijke mate te danken aan de ontrafeling van het "tumor-inducerend principe" (TIP) van de bodembacterie *Agrobacterium tumefaciens*. Dit onderzoek, waarin de Gentse universiteitsprofessoren Jeff Schell en Marc Van Montagu in de woelige onderzoeksperiode eind der zeventiger en begin der tachtiger jaren, een meer dan cruciale rol vervulden, leidde immers tot de ontwikkeling van een techniek waarmee het voor het eerst mogelijk werd een gen van een willekeurig organisme in te bouwen in het erfelijk materiaal van een plant.

Het verhaal start in het prille begin van deze eeuw, toen vastgesteld werd dat sommige plantensoorten zoals tomaat, aardappel en tabak na infectie door *Agrobacterium tumefaciens* tumorachtige gezwellen ontwikkelen. Deze ongewone observatie werd nog intrigerender toen een onderzoeksgroep rond Dr. Braun in de periode 1942-1948 aantoonde dat geïsoleerde stukjes tumorweefsels in *in vitro* cultuur probleemloos verder groeiden, en dit zonder plantenhormonen toe te voegen aan het voedselmedium. Gezien dit tumorweefsel bacterievrij was, kon enkel besloten worden dat het voorafgaand contact tussen *Agrobacterium* en de plant voldoende was geweest om de mechanismen verantwoordelijk voor de groei en de differentiatie van de plantencel permanent te wijzigen. Braun postuleerde dat *Agrobacterium* een "tumor-inducerend principe" (TIP) bezat dat tijdens de infectie overgedragen werd naar de waardplant en verantwoordelijk was voor de neoplastische groei. De queeste was geopend.

Een belangrijke stap voorwaarts was de ontdekking in 1956 dat tumorcellen heel specifieke stoffen synthetiseren - later "opines" genoemd - die nooit voorkomen in normale cellen van dezelfde plant. Het volle belang van deze vaststelling in de opheldering van het TIP werd slechts meer dan 10 jaar later duidelijk. Toen werd in eerste instantie aangetoond dat er een direct verband bestaat tussen de *Agrobacterium* stam die infecteert en het type opine (nopaline, octopine, agropine, ... ) dat geproduceerd wordt in de tumor. Bovendien bleek dat een *Agrobacterium* stam die de synthese van nopaline induceert in een tumor *in vitro* kon gekweekt worden op een medium met nopaline (maar niet octopine) als enige koolstof- en stikstofbron.

Omgekeerd kon een stam die octopinesynthese induceert op een uiterst selectieve wijze octopine (maar niet nopaline) kataboliseren. Deze waarnemingen suggereerden hoe *Agrobacterium* een competitief voordeel kan putten uit de associatie met planten. Na een succesvolle infectie ontstaat immers een tumor die opines synthetiseert en vrijstelt in de rhizosfeer, waardoor alle in de nabije omgeving aanwezige *Agrobacteria* die het geschikte Ti-plasmide bezitten over een eigen specifieke koolstof- en stikstofbron kunnen beschikken.

Een tweede hypothese die voortvloeide uit de strikte metabole relaties werd in 1970 naar voor geschoven door een onderzoeksgroep rond Petit en stelde dat de eenduidige relatie opinesynthese / *Agrobacterium* stam verklaard kon worden door aan te nemen dat er een transfer plaatsgreep van genetische informatie van de bacterie naar de plant. Een gedurfde uitspraak, al was het maar omdat, met uitzondering van het nauw verwante *Agrobacterium rhizogenes* species, noch ervoor noch erna ooit een ander bacterieel species geïdentificeerd werd dat zijn erfelijk materiaal kan transfereren naar een plant!

Op basis van deze bevindingen gingen verscheidene onderzoeksgroepen koortsachtig op zoek naar de verklaring van het tumorinducerend principe. Een ervan was het kersverse Laboratorium voor Genetica (Rijksuniversiteit Gent) o.l.v. Jeff Schell en Marc Van Montagu. De vraag die op ieders lippen brandde was: welk deel van de bacteriële genetische informatie is verantwoordelijk voor de tumorinductie en de opineproductie?

### **Het tumorinducerend plasmide**

Een cruciale stap in de goede richting kwam er via 2 publicaties van de Gentse onderzoeksgroep. Een eerste publicatie in 1974 stelde dat virulente *Agrobacterium* stammen die tumoren kunnen induceren altijd een groot plasmide bevatten, terwijl nauwverwante *Agrobacterium* stammen die niet in staat zijn tumoren te induceren geen dergelijk plasmide bevatten. Een tweede publicatie in 1975 toonde aan dat een avirulente stam het vermogen om tumoren te vormen kan verwerven door het grote plasmide van een virulente stam naar de betreffende avirulente stam te conjugeren. Deze genetische studies suggereerden dus dat een extrachromosomaal plasmide de beste kandidaat was voor een rol als TIP. Daarom kreeg het plasmide de naam Ti-plasmide of tumor-inducerend plasmide.

De volgende stap bestond erin expliciet aan te tonen dat in de tumorcellen wel degelijk bacterieel DNA aanwezig is. De eerste indirecte evidentie hiervoor werd bekomen door de groep van Marie-Dell Shilton die in 1977 aantoonde dat welbepaalde fragmenten van het Ti-plasmide beduidend sneller reassocierden in aanwezigheid van DNA geïsoleerd uit tumorweefsel. Het definitieve bewijs kwam er

in 1978 toen de onderzoeksgroep van J. Schell en M. Van Montagu via Southern hybridisaties de aanwezigheid van specifieke Ti-plasmide DNA-fragmenten in het DNA van tumorcellen demonstreerde.

De nieuwe ontdekkingen lokten steeds meer onderzoeksgroepen naar het *Agrobacterium* onderzoek, dat nu in een echte stroomversnelling terecht kwam. Het Laboratorium voor Genetica bleef zich in de frontlinie bewegen en vervulde in de periode 1979-1981 een cruciale rol in het opstellen van genetische kaarten en kaarten met de restrictie-enzym knipplaatsen van het Ti-plasmide. Hierbij bleek dat de Ti-plasmiden - die ondertussen geclassificeerd werden op basis van de opines die ze specificieerden - 4 belangrijke functionele regio's bezitten: een regio verantwoordelijk voor de replicatie van het plasmide, een regio noodzakelijk voor de conjugatie van het plasmide naar andere *Agrobacterium* stammen en 2 regio's die volgens de genetische analyses betrokken waren bij de tumorvorming. Via hybridisatie van radioactief gemerkte, specifieke Ti-plasmidefragmenten met DNA geïsoleerd uit tumoren, werd aangetoond dat een van deze regio's, het zogenaamde T-DNA (Transfer-DNA), aanwezig was in het erfelijk materiaal van de plant. De tweede regio, noodzakelijk voor de oncogeniciteit, is de zogenaamde virulentie (vir) regio. Zoals later zou worden aangetoond, resideren in dit gebied nagenoeg alle genen die coderen voor de eiwitten die een primordiale rol spelen in het transfereren van het T-DNA van het bacteriële genoom naar het plantengenoom. De vir regio zelf wordt niet getransfereerd naar het plantengenoom.

### Het Transfer-DNA

In deze fase van het *Agrobacterium* onderzoek werd duidelijk dat een willekeurig gen enkel zou kunnen binnengesmokkeld worden in het genoom van de plant, als het zich op een T-DNA bevond. De meerderheid van de inspanningen was dan ook gefocust op de opheldering van de T-DNA structuur.

In diverse laboratoria verspreid over de wereld werd het T-DNA onder vuur genomen door een van de meest intense transposoninsertie mutagenisaties uit de toen nog korte geschiedenis van de moleculaire biologie. Via deze aanpak slaagden Schell en Van Montagu er als eersten in om een functie toe te kennen aan een van de T-DNA genen; *in casu* het nopalinesynthasegen dat instaat voor de synthese van nopaline in de plantentumoren. Heel snel werd er gepubliceerd het team onder leiding van Schell en Van Montagu de volledige nucleotidensequentie van het nopalinesynthase- en ook het octopinesynthasegen. Onder meer uit deze data kon afgeleid worden dat T-DNA genen alle DNA-signaalsequenties bezitten om tot expressie te kunnen komen in eukaryote plantencellen, een niet evident fenomeen wanneer je bedenkt dat het hier om DNA van bacteriële oorsprong gaat! In dezelfde periode 1981-1983 identificeerden verscheidene groepen, waaronder die van Schell en Van Montagu, tevens de T-DNA genen die verantwoordelijk zijn voor het ontstaan van de plantentumoren. Gen1 en gen2 van het T-DNA bleken te coderen voor auxinesynthetiserende enzymen, gen4 codeert voor een eytokininesynthetiserend enzym. De expressie van deze genen resulteert in de productie van abnormale concentraties groeiregulatoren waardoor een rustende plantencel opnieuw gaat delen en ongecontroleerd gaat uitgroeien tot een tumorachtig gezwell.

Het T-DNA mutagenisatieonderzoek resulteerde tevens in een aantal andere belangrijke vaststellingen die van kapitaal belang waren voor de ontwikkeling van het T-DNA gentransfersysteem als vector voor de introductie van vreemde genen in het plantengenoom.

Ten eerste toonde het team van J. Schell en M. Van Montagu aan dat een T-DNA waarin, met uitzondering van de opinesynthasegenen, alle wild type T-DNA genen gedeleteerd werden toch nog altijd getransfereerd wordt naar het plantengenoom. Gezien in dit geval de genen coderend voor de auxine- en eytokininesynthetiserende enzymen ontbreken, worden na infectie geen tumoren gevormd. Het wondweefsel dat ontstaat na de infectie bevat echter wel degelijk opines. De primaire conclusie die hieraan vasthangt is dat slechts een heel beperkt deel van het T-DNA noodzakelijk is voor de eigenlijke DNA-overdracht van de bacterie naar de plantencel. Erg gedetailleerde studies gepubliceerd in de periode 1982-1984 toonden aan dat een directe herhaling van een sequentie van 25



baseparen die het T-DNA aan beide uiteinden flankeert (de zogenaamde T-DNA grensgebieden) voldoende is om het tussenliggend DNA te transfereren naar de plantencel. Een secundaire conclusie is dat de T-DNA transfer compleet kan losgekoppeld worden van de tumorvorming.

Ten tweede demonstreerden Schell en Van Montagu ook als eersten dat vreemd DNA - meer in het bijzonder een transposon dat gebruikt werd tijdens een van de transposoninsertie mutagenese-experimenten - dat zich bevindt tussen de T-DNA grensgebieden gecotransfereerd wordt naar de plantencel en wordt opgenomen in een van de chromosomen van de geïnfecteerde cel.

### **De weg naar de allereerste transgene planten**

De conclusie uit het voorgaande onderzoek was duidelijk: alles wees er op dat het natuurlijk *Agrobacterium* gentransfersysteem kon gemodificeerd worden tot de gedroomde vector om specifieke genen binnen te brengen in het plantengenoom. Het enthousiasme van de binnen- en buitenlandse onderzoekers in het Laboratorium voor Genetica, begeesterd door de professoren Schell en Van Montagu, dreef het onderzoek vooruit.

Vooreerst werd een niet-oncogene Ti-plasmide vector geconstrueerd, het zogenaamde pGV3850 plasmide, waarin de T-DNA genen coderend voor de fytohormoon synthetiserende enzymen vervangen werden door de plasmidesequenties van pBR322, een plasmide dat in die periode erg courant gebruikt werd als kloningsvector in *Escherichia coli*. De beoogde strategie was duidelijk. Een gen naar keuze kon via de zo goed als kersvers beschikbaar gekomen recombinant DNA-technieken gekloond worden in het makkelijk te manipuleren *E. coli* plasmide pBR322 (of een afgeleide). Vervolgens kon het recombinante pBR322 plasmide door een interspecies conjugatie tussen *E. coli* en *A. tumefaciens* binnengebracht worden in *Agrobacterium*, waar via een homologe recombinatie tussen de homologe pBR322-sequenties aanwezig op beide plasmiden het gen naar keuze finaal terecht kwam tussen de T-DNA grensgebieden van het pGV3850 plasmide. De vector voor gentransfer was klaar!

Een vreemd gen transfereren naar een plantencel is één zaak, het gen tot expressie brengen in de plantencel is een andere zaak. Daarom werd op een tweede frontlinie slag geleverd om zo snel mogelijk een zogenaamd chimeer merkgeng te construeren dat opgebouwd was uit DNA-fragmenten van 3 verschillende oorsprongen:

- i) het 5' regulatorische gebied van het nopalinesynthasegen, waarvan net ontdekt was dat het de nodige DNA-sequenties bezat om een gen tot expressie te brengen in plantencellen;
- ii) het coderend gebied van het Tn5-neomycine fosfotransferase II (nptII)-gen dat codeert voor een eiwit dat de plantencel potentieel kan beschermen tegen het voor de plant toxische antibioticum kanamycine en
- iii) het 3' regulatorische gebied van het octopinesynthasegen dat moest instaan voor de correcte terminatie van transcriptie.

Het cruciale experiment dat definitief moest bewijzen dat het mogelijk was om via het *Agrobacterium* gentransfersysteem een willekeurig vreemd gen tot expressie te brengen in de plantencel kon van start gaan. Het chimere merkgeng, gekloond in de pBR322-vector werd via conjugatie en homologe recombinatie geïnsereerd tussen de T-DNA grensgebieden van pGV3850. Het nieuwe recombinante plasmide werd pGV3850::nptII genoemd. De volgende stap zou logischerwijs bestaan uit de infectie van de waardplant met een *Agrobacterium* stam die het pGV3850::nptII Ti-plasmide bezit, gevolgd door de selectie van het zogenaamd transgeen plantenweefsel dat in zijn nucleair DNA het T-DNA bezit. Hier stelde zich echter een probleem. Het pGV3850::nptII bezit niet langer de genen die coderen voor de fytohormoonsynthetiserende enzymen, en daardoor is de identificatie en selectie van transgeen weefsel niet langer mogelijk door een eenvoudige screening voor het tumorfenotype. Dit probleem werd echter door de onderzoekers voorzien en de oplossing werd geboden door enerzijds de elegante samenstelling van het chimere gen en anderzijds de beschikbaarheid van efficiënte weefselcultuurtechnieken die het toelieten om uit geïsoleerde en van hun celwand ontdane plantencellen (zogenaamde protoplasten) volwassen en bloeiende planten te regenereren.

Het experiment verliep als volgt. Protoplasten afkomstig van tabaksprotoplasten werden geïnoculeerd met de *Agrobacterium* stam die het pGV3850::nptII bevat. Enkele dagen na de infectie werden de bacteriën gedood en werden de protoplasten op een voedingsmedium geplaatst dat de geschikte concentraties plantenhormonen bevatte zodat de protoplasten snel deelden en uitgroeiden tot calli. Met het doel de transgene calli te kunnen onderscheiden van de niet-transgene calli werd aan het medium een concentratie van het antibioticum kanamycine toegevoegd waarvan gekend was dat ze de groei van normale tabaksprotoplasten volledig inhield. Indien, zoals door de onderzoekers gepostuleerd werd, het T-DNA transfereert naar het nucleaire genoom van de tabaksprotoplasten en indien het chimere gen tot expressie komt in de plantencel, dan werd verwacht dat de aanwezigheid van het neomycine fosfotransferase II enzym in het transgene weefsel de cellen zou beschermen tegen kanamycine. Hoe mooi wetenschap kan zijn, bleek toen de verwachting realiteit werd. Op het voedingsmedium groeiden kanamycine-resistente calli en via enzymatische testen en Southern hybridisaties kon definitief aangetoond worden dat het chimere nptII-gen aanwezig was in het genoom van de tabaksplanten en er bovendien tot expressie kwam. Deze resultaten, die de poort openen naar een ware explosie van de plantenbiotechnologie, werden in 1983 gepubliceerd in het vooraanstaande wetenschappelijke tijdschrift "Nature". Hoe intens de competitie wel geweest was, bleek toen nauwelijks een week later de groep van Mike Bevan gelijkaardige resultaten publiceerde in "Science".

Door de transgene calli te transfereren naar voedingsmedia met de geschikte concentraties plantenhormonen werden complete, transgene planten geregenereerd, die in al hun cellen naast de gebruikelijke genen ook het chimere nptII-gen bevatten. Hierbij valt op te merken dat de eigenschap dat uit afzonderlijke cellen complete organismen kunnen worden gekweekt, in het vakjargon totipotentie genoemd, uniek is voor planten en een essentieel element uitmaakt van het welslagen van de genetische manipulatie bij hogere planten. De grondslagen van het *Agrobacterium* verhaal werden mooi afgerond toen J. Schell en M. Van Montagu in 1984 demonstreerden dat de overdracht van het vreemde chimere nptII -gen naar de volgende generatie volkomen voldeed aan de wetten van Mendel.

## Desiré Collen

Met zijn publicatie in "Science" in 1983 omtrent de mogelijke medicamenteuze toepassing van weefsel plasminogeen activator (t-PA) voor het oplossen van coronaire bloedklonters bij patiënten met een acuut hartinfarct, mag Desiré Collen (foto), geneesheer en hoogleraar aan de Leuvense Universiteit, zich de vader noemen van een van de grootste successen van de geïndustrialiseerde moderne biotechnologie.

(Intermezzo over trombose en plasminogeen activator).

Chronologisch begint het verhaal ergens eind 1978 toen Desiré Collen onderzoek verrichtte naar synthetische inhibitors van plasminogeen activator. Om degelijk *in vitro* werk te kunnen verrichten werd gezocht naar een constante en reproduceerbare bron van plasminogeen activator. Van een New Yorkse collega kreeg Collen de "Bowes melanoma cellijn" ter beschikking waarvan beschreven was dat ze grote hoeveelheden plasminogeen activator secreteerde, zonder te weten welke molecuul precies instond voor deze activiteit. Nadat de kweek van deze cellijn in samenwerking met de Leuvense groep o.l.v. Alfons Billiau onder controle was gekregen, werd d.m.v. proteïne-zuiveringstechnieken de plasminogeen activator uit het cultuurmedium van de Bowes cellijn geïsoleerd en werden antilichamen en een immunologische doseringstechniek ontwikkeld. Op basis van biochemische karakterisatie bleek het om t-PA te gaan.

Achteraf beschouwd is het eigenlijk puur toeval dat Desiré Collen een cellijn gekregen had die t-PA produceert, daar de meeste getransformeerde cellijnen urokinase-achtige plasminogeen activators produceren. Besloten werd om naast de oorspronkelijk geplande projecten ook de trombolytische effecten van t-PA nader te onderzoeken; eerst *in vitro*, dan *in vivo* op proefdiermodellen (konijnen) met experimentele longembolie.

Naar aanleiding van een NIH-workshop over coronaire trombolysie, waar de eerste beloftevolle resultaten van dit proefdieronderzoek werden voorgesteld, werd een intensieve samenwerking gestart met Dr. B. Sobel van de universiteit van Washington waarbij het trombolytisch effect van t-PA werd onderzocht in een aantal experimentele proefdiermodellen voor acuut myocardinfarct. Gekozen werd voor een hondproefdiermodel met mechanisch geïnduceerde coronaire trombose. Intraveneus infuus met humaan t-PA, gezuiverd uit het cultuurmedium van de bovenvermelde Bowes cellijn, leidde prompt tot een herbevoeiing van de kransslagaders, zonder een systemische activatie van het fibrinolytisch systeem. Deze resultaten leverden de bovenvermelde publicatie op in "Science".

Tijdens dit onderzoek bleek echter al vlug dat de Bowes cellijn niet de vereiste hoeveelheden t-PA kon leveren. Daarom werd gezocht naar een alternatief. Dit kwam in 1981 opnieuw spontaan opduiken op het Vijfde Congres over Fibrinolyse, waar de resultaten van het eerste proefdieronderzoek op konijnen werd voorgesteld. Een medewerker van Genentech stelde voor het menselijk t-PA-gen te kloneren. Desiré Collen ging op dit voorstel in en dank zij de intensieve samenwerking die tussen de twee groepen in dit verband ontstond kon reeds het daarop volgende jaar op het Zesde Congres over Fibrinolyse de klonering van het menselijk t-PA-gen worden voorgesteld. Met dit stukje werk haalden Collen en Genentech in 1983 het prominente vaktijdschrift "Nature".

De klinische testen op het hondproefdiermodel werden met het menselijk recombinant t-PA (rt-PA) met succes herhaald. In samenwerking met een tweede Amerikaanse en een Leuvense groep (o.l.v. W. Flameng) werd de bloedklonter-specifieke activiteit van het rt-PA bevestigd op twee bijkomende proefdiermodelsystemen, waaronder de hond en de baviaan. Met de resultaten van deze studies in de hand kon reeds in 1983 de toestemming van de Amerikaanse "Food and Drug Administration" bekomen worden voor het uitvoeren van de eerste testen op mensen. De eerste resultaten logen er niet om. Bij 6 van de 7 geteste hartinfarctpatiënten werd binnen het uur een volledig verstopte kransslagader heropend door de intraveneuze toediening van 200-400 µg tPA, hetzij het equivalent van de hoeveelheid t-PA natuurlijk aanwezig in zo een 300 liter bloed.

Na de volgende fasen van het klinisch onderzoek en de registratie doorlopen te hebben werd t-PA in 1987 door Genentech op de markt gebracht. Gezien het geneeskundig belang van deze molecule werd de lancering van t-PA dan ook meteen een kassucces. Momenteel bedraagt de wereldmarkt voor t-PA zo een 200 miljoen Dollar per jaar.

Aldus heeft de ontdekking van de Vlaamse geleerde Desiré Collen, dat de lichaamseigen stof t-PA levensreddend kon aangewend worden voor het oplossen van bloedklonters bij patiënten met een acute hartaanval, geleid tot de biotechnologische ontwikkeling van een nieuw geneesmiddel. Deze succesvolle samenwerking tussen universiteit en industrie levert de KU Leuven nu aanzienlijke royalty's op die via de met dit geld opgerichte "Desiré Collen Research Foundation" opnieuw in het wetenschappelijk onderzoek worden geïnvesteerd.

### **3. De Vlaamse bio-industrie**

Het bewijs dat fundamenteel onderzoek aanleiding kan geven tot waardevolle industriële toepassingen werd overduidelijk geïllustreerd in het domein van de moderne biotechnologie. Reeds 5 jaar na de ontwikkeling van de rDNA-technologie werden de eerste biotechnologiebedrijven opgericht. Alleen al in de V.S. bestaan er vandaag reeds meer dan 350 biotechondernemingen. Ongeveer de volledige technologie die door deze bedrijven wordt gebruikt is het resultaat van fundamenteel onderzoek, vooral in de domeinen van de moleculaire biologie en de immunologie.

Hoewel de Europese onderzoekers even talentrijk en experimenteel begaafd waren als hun Amerikaanse collega's zijn vandaag in Europa nauwelijks enkele bio-hightechbedrijven, die naam waardig, actief. Dit is grotendeels te wijten aan het Europees gebrek aan "venture capital",

"ondememers-vriendelijk"-klimaat, wetgeving i.v.m. industriële bescherming, beurstoegankelijkheid, stock-option mogelijkheden en dergelijke meer. Dit had als onmiddellijk gevolg dat - in schril contrast met zijn academisch potentieel (cfr. hierboven) - Europa niet aantrekkelijk genoeg bleek om nieuwe inplantingen te realiseren, laat staan om de verdere groei ervan te stimuleren. Een van de weinige bedrijven dat er ondertussen toch is in geslaagd internationale bekendheid en een respectabele omvang te bereiken is Innogenetics, een Vlaams biotechnologisch bedrijf actief in de gezondheidszorg.

## **Innogenetics**

Het initiatief voor de oprichting van dit bedrijf werd genomen door Dr. Hugo Van Heuverswyn (foto), voordien werkzaam bij Biogen(t), een van de biotechbedrijven van het eerste uur. In plaats van in het voetspoor te treden van vele collega's die ondertussen waren uitgeweken naar de V.S. besloot deze moleculair bioloog het risico te nemen om, ondanks de boven geciteerde ongunstige omstandigheden, toch te proberen een Vlaams bio-hightech-bedrijf op te richten. Hij vond hiervoor een bondgenoot in de persoon van Rudy Marien, apotheker-klinisch bioloog die het initiatief boeiend genoeg vond om er zijn volledige professionele en financiële steun aan te geven. Vervolgens werd er een overeenkomst opgezet met het technologie transfert-bedrijf Innovi voor het gezamenlijk uitwerken van een businessplan. Zo kwam Hugo Van Heuverswyn in contact met Eric Tambuyzer die later bij de oprichting van Innogenetics naar dit nieuwe bedrijf zou overstappen. Van bij de aanvang werden een aantal belangrijke strategische punten vooropgezet.

De algemene strategie is steeds het aanwenden van moleculair en celbiologische spits technieken voor de identificatie van nieuwe, biologisch actieve moleculen, die potentiële toepassing kunnen vinden als therapeuticum in de humane gezondheidszorg.

Op weg naar de ontwikkeling van dergelijke biomoleculen wenste Innogenetics, steeds in een vroeg stadium van het onderzoek, een aantal "spin offs" te commercialiseren zoals bvb. *in vitro* (of *in vivo*) diagnostica. Deze vroege commercialisatie diende de financiering van het verder onderzoek naar het ultieme doel, hetzij het therapeuticum, te verzekeren. Indien een project aan dit strategisch criterium niet meer voldeed zou het gestaakt worden.

"File rouge" in de Innogenetics-projecten was dat er in de diverse domeinen telkens gestreefd werd naar een voor beide partners bevruchtende samenwerking met gespecialiseerde competitieve universitaire onderzoekslaboratoria, die minder vertrouwd zijn met de "core technology" van de genetische bouwkunde. Deze laatste zou telkens worden ingebracht door Innogenetics. Tevens werd vooropgesteld dat het onderzoeksdomein van Innogenetics voldoende breed diende te zijn zodanig dat de toekomst van het bedrijf niet afhankelijk zou zijn van een enkele verwachte hoogvlieger en er voldoende risicospreiding mogelijk zou zijn.

De therapeutisch interessante moleculen zouden initieel worden gevaloriseerd via overeenkomsten met gevestigde farmaceutische bedrijven en het zou slechts in een latere fase zijn, wanneer daarvoor een voldoende gezonde financiële ondersteuning verzekerd zou zijn, dat Innogenetics zelf therapeutica naar de markt zou brengen. Deze strategie hield zoveel mogelijk rekening met de beperkte beschikbaarheid van publiek toegankelijk investeringsgeld in Europa.

Na meer dan een jaar voorbereiding werd Innogenetics uiteindelijk officieel opgericht in juli 1985 met een startkapitaal van ongeveer 200 miljoen BF., bij elkaar gebracht door een aantal privépersonen samen met de Gewestelijke Investerings Maatschappij van Vlaanderen (GIMV).

Vandaag telt Innogenetics een honderdzeventigtal werknemers waarvan ongeveer twee derden van universitair niveau en een derde van hoger niet-universitair niveau. Deze groep heeft gedurende zijn zesjarig bestaan een technologie uitgebouwd die ongeveer alle moderne biotechnologische technieken omvat, gaande van weefselkweek, genkloning, expressie van recombinante eiwitten in diverse pro- en eukaryote systemen, eiwitzuivering, peptide- en nucleotidesynthese en -sequentie, tot upscaling,

down-streamprocessing enz. Innogenetics focusteert zijn onderzoeksactiviteiten in de volgende domeinen: infectieuze ziekten (Aids, ..), ouderdomsziekten (Alzheimer, ..), cardiovasculaire aandoeningen (atherosclerose ..), ziekten van het immuunsysteem en wondheling.

Sinds zijn oprichting is Innogenetics nooit afgeweken van zijn strategische uitgangspunten. Dit heeft er vermoedelijk toe geleid dat Innogenetics momenteel een bloeiend high-tech bedrijf (foto) is, dat momenteel ongeveer de helft van zijn inkomsten realiseert met de verkoop van diagnostische producten waarvan onderzoek, ontwikkeling en productie volledig binnen het bedrijf gebeuren.

Een van de eerste commerciële successen van Innogenetics betreft de diagnostica, bestemd voor de opsporing van antigenen van en antilichamen tegen het AIDS-verwekkend virus HIV. Dit virus was pas ontdekt in 1983 en het mag dan ook een toer van spitstechnologische krachtpatserij heten dat Innogenetics nog geen twee jaar na zijn oprichting, een paar dagen voor de opening van Flanders Technology International '87, een wereldprimeur aankondigde met de lancering van de eerste HIV-antigentest, wat hen meteen de FTI-award opleverde.

Sindsdien ontwikkelde Innogenetics ook tweede en derde-generatie HIV-antilichaamtesten, respectievelijk op basis van recombinante antigenen en synthetische peptiden. Tevens werd een eenvoudige bevestigingstest ontwikkeld die de omslachtige Western-blot techniek kon verdringen. Deze test, LIA (Line Immuno Assay) genoemd, maakt gebruik van een combinatie van synthetische peptiden en recombinante antigenen die, lijnsgewijze aangebracht op een nitrocellulose-strip, de detectie mogelijk maken van specifieke HIV-1 en HIV-2 antilichamen (foto). Deze LIA-technologie werd ook gecommmercialiseerd voor de snelle en vereenvoudigde subtypering van monoklonale antilichamen.

Intussen bouwde Innogenetics een omstandig repertorium op van biotechnologische successen, waarvan een aantal commerciële realisaties kunnen geciteerd worden zoals het diagnostisch opsporen van antilichamen tegen het hepatitis C virus evenals het opsporen van merkers voor verhoogd cardiovasculair risico zoals t-PA, PAI-1, fibrine D-dimeer en Lp(a).

In het farmaceutisch gericht onderzoek wordt momenteel preklinisch onderzoek geïnitieerd met een drietal moleculen. Een heeft tot doel de infectie van levercellen door het hepatitis B virus te blokkeren; een tweede molecule heeft beengroei-stimulerende activiteit, terwijl een derde component wordt geëvalueerd voor het verwijderen van cholesterol uit atherosclerose letsels. Met dit potentieel behoort het spitstechnologisch bedrijf Innogenetics dan ook tot de absolute top van de Europese bio-high-tech-bedrijven.

## **Plant Genetic Systems**

Het Vlaamse biotechnologie bedrijf Plant Genetic Systems (PGS) werd in 1983 opgericht in de schoot van de Rijksuniversiteit Gent en stelde zich als doel de genetische modificatie-technieken, ontwikkeld in het laboratorium van de professoren Marc Van Montagu en Jeff Schell (zie hoger) in te zetten om landbouwgewassen te creëren met een hoge toegevoegde waarde. Klein begonnen groeide PGS sinds zijn oprichting uit tot een high-tech bedrijf dat momenteel in zijn R&D-afdeling meer dan 80 wetenschappers - waaronder ongeveer 25 doctors in de wetenschappen en de landbouwwetenschappen - tewerkstelt. Dit onderzoeksteam slaagde erin om in de speerpunttechnologie van de genetische modificatie van planten een mooi palmares aan wereldprimeurs bijeen te rijven.

Een eerste realisatie waarmee PGS in 1985 op de voorgrond trad, was de ontwikkeling van 's werelds eerste genetisch gemodificeerde insectresistente planten. Het systeem is gebaseerd op de observatie dat in de natuur voorkomende *Bacillus thuringiensis* (Bt) bacteriestammen kristaleiwitten aanmaken die uiterst giftig zijn voor specifieke insectensoorten. Zo is een bepaald kristaleiwit wel dodelijk voor het aardappelmotje maar helemaal niet giftig voor de mens, voor vogels of voor nuttige insecten

zoals de honingbij. Omwille van deze selectieve toxiciteit worden (sporen van) deze Bt-stammen al meer dan 30 jaar gebruikt als milieuvriendelijk biologisch insecticide. In een elegante alternatieve benadering om plantenvraat door insecten te verhinderen isoleerde PGS het gen dat de erfelijke informatie bevat voor een specifiek kristaleiwit en smokkelde het via het *Agrobacterium tumefaciens* gentransfersysteem binnen in het genoom van de tabaksplant. Doordat het bacteriële gen door de onderzoekers voorzien werd van de nodige plant expressiesignalen (promotor, 3'-regulatorische sequenties), werden in de planten kristaleiwitten gesynthetiseerd. Uit grootschalige veldtesten bleek dat de schadelijke insecten geen schade meer berokkenen aan deze getransformeerde planten (foto). Het op ruime schaal inzetten van deze technologie moet kunnen leiden tot een vermindering van het gebruik van insecticiden, wat een belangrijk dividend oplevert voor het milieu.

In 1986 scoorde PGS voor een tweede keer heel hoog toen het aankondigde dat de R&D-cel er in geslaagd was trans gene planten te produceren die resistent waren tegen het herbicide Basta. Deze onkruidbestrijder, die geproduceerd wordt door het Duitse bedrijf Hoechst, is nauw verwant met een natuurlijk product dat gesynthetiseerd wordt door welbepaalde *Streptomyces* stammen. Om zichzelf te beschermen tegen dit product beschikken deze bacteriën over het fosfinothricine-acetyltransferase, een enzym dat de toxiciteit van het Basta-analoog volkomen inhibeert. Het gen dat codeert voor dit eiwit werd geïsoleerd uit *Streptomyces* en werd gefusioneerd met een plantenpromotor. Na stabiele introductie van deze constructie in het erfelijk materiaal van tabaksplanten, bleken de transgene planten resistent tegen een dosis Basta die tot tien keer hoger lag dan de concentraties die gebruikt worden in de landbouw (foto). Omdat PGS in zijn beginjaren ook veel aandacht besteed had aan de ontwikkeling van gesofisticeerde weefselweekmethodes voor diverse commercieel belangrijke gewassen, slaagde het bedrijf erin om de herbicideresistentie in een uiterst kort tijdbestek uit te breiden naar gewassen zoals aardappel, tomaat, koolzaad, alfalfa, suikerbiet en populier. Voor diverse van deze plantensoorten, waaronder suikerbiet (1988), waren de herbicideresistente planten de allereerste ooit beschreven transgene exemplaren.

In 1989 kwam PGS met zijn tot nog toe meest ophefmakende verwezenlijking op de proppen. Het bedrijf publiceerde in "Nature" een revolutionaire en efficiënte methode om hybride planten te produceren. Zowel in de wetenschappelijke wereld als in de wereld van de zaadindustrie werd deze realisatie glansrijk onthaald. Hybride planten, die ontstaan uit zaad dat bekomen werd door kruising tussen 2 (zuivere) ouderlijnen met verschillende eigenschappen, genieten immers sinds een vijftigtal jaar steeds meer interesse. De voornaamste reden is dat hybriden landbouwkundig beter presteren dan elk van de afzonderlijke ouderlijnen waaruit ze gecreëerd werden. Dit verschijnsel, dat in het vakjargon bekend staat als heterosis of bastaardgroeikracht, zorgt er voor dat de meerwaarde van hybride zaad kan oplopen tot tienmaal de prijs van gewone zaden. Het probleem waarmee zaadbedrijven tot nog toe echter geconfronteerd werden is dat het merendeel van de belangrijke landbouwgewassen zich voortplant via zelfbevruchting (de mannelijke en de vrouwelijke voortplantingsorganen bevinden zich op een en dezelfde plant). Gezien hybriden enkel tot stand kunnen komen door bevruchting met stuifmeel van een andere plant, moet dus in eerste instantie verhinderd worden dat natuurlijke zelfbevruchting plaatsgrijpt.

Voor een aantal gewassen zoals tomaat en mais gebeurt dit via het manueel verwijderen van de meeldraden, een arbeidsintensieve en dus dure aangelegenheid. Zo worden bv. in de V.S. jaarlijks ongeveer 35.000 jobstudenten ingezet voor de verwijdering van de maisaren die de meeldraden bevatten. Daaraan alleen wordt jaarlijks al een bedrag besteed van om en bij de 200 miljoen dollar. Bovendien lenen niet alle gewassen zich voor dergelijke manuele ontmanningen. Voor veel van deze gewassen (bv. koolzaad) betekende dit dat er tot op heden geen bruikbare, commerciële hybriden konden ontwikkeld worden. De technologie die door PGS ontwikkeld werd om dit probleem te overwinnen is even eenvoudig als elegant. Het systeem (zie intermezzo) berust op het produceren van transgene planten die vrouwelijk fertiel maar mannelijk steriel zijn. Hierdoor is alle kans op zelfbevruchting uitgeschakeld en kunnen de mannelijk steriele planten probleemloos aangewend worden als vrouwelijk ouder in een hybride zaadproductieschema. Het mooie aan het systeem, dat de merknaam Seedlink meekreeg, is dat het kan toegepast worden in een zeer brede waaier van gewassen zoals koolzaad, tomaat, witlof, sla en graangewassen zoals mais. Voor bestaande hybride

productiesystemen (bv. tomaat en mais) biedt Seedlink een kostenbesparend alternatief. In andere gewassen (bv. koolzaad) opent Seedlink de poort voor de snelle ontwikkeling van de eerste hybriden. Met deze doelstelling voor ogen richtte PGS heel recent een dochterbedrijf op in Canada, de bakermat voor de productie van koolzaad.

Eveneens in 1989 kwam PGS naar buiten met een gloednieuwe techniek die de moleculaire landbouw ("molecular farming") genoemd werd. Deze techniek houdt in dat planten via een gentechnologische ingreep omgevormd worden tot producenten van waardevolle eiwitten (of peptiden). Zo gaven de wetenschappers van PGS koolzaad de nodige instructies om in zijn zaden enkefaline te produceren, een menselijk herseneiwit van 5 aminozuren dat als natuurlijke pijnstiller fungeert. Een ander product dat in zaden van koolzaad werd aangemaakt, is magainine, een bewaarmiddel dat o.a. in de cosmetica wordt gebruikt. Uitbreiding van deze technologie naar de productie van andere neuropeptiden en groeihormonen wordt momenteel onder de loep genomen.

Tot slot kan gesteld worden dat PGS sinds zijn oprichting in 1983 kan beschouwd worden als een voortrekker op het gebied van de moleculaire veredeling van landbouwgewassen en momenteel vandaag diverse transgene planten ter beschikking heeft die op de drempel van de commercialisatie staan. In dit kader is het belangrijk op te merken dat PGS ook aan de top staat wat betreft het aantal uitgevoerde klein- en grootschalige veldtesten met genetisch gemodificeerde planten en op die manier een overtuigend antwoord zal kunnen leveren op de maatschappelijke vragen naar het nut en de mogelijke voor- en nadelen rond het gebruik van de biotechnologie in de plantenveredeling.

## **International Bio-Synthetics**

Aan de rand van het stadscentrum, zelfs nog binnen de wallen van deze middeleeuws ogende stad, herbergt Brugge de tweede grootste producent ter wereld, na het Deense Novo, van industriële enzymen. Het gaat hier om International Bio-Synthetics (IBIS), een volwaardige en zelfstandige onderneming van het Nederlandse biotechnologieconcern Gist-Brocades (2 foto's IBIS-plant).

De geschiedenis van deze Gist-Brocades vestiging gaat terug tot in 1897 toen een lokale Vlaamse landbouwstokerij, toen nog gelegen te Sijsele (Darnme), door het moederbedrijf de Koninklijke Nederlandse Gist- en Spiritusfabrieken werd overgenomen. Pas later verhuisde deze vestiging naar zijn huidige locatie te Brugge.

IBIS is een typisch voorbeeld van hoe de klassieke en de moderne biotechnologie met elkaar verweven zijn. Aanvankelijk werden enkel gist en alcohol geproduceerd. In 1969 besliste de toenmalige raad van bestuur van Gist-brocades - de naamsverandering gegroeid zijnde uit een in 1961 aangegane fusie - de productie van proteolytische (eiwitsplitsende) enzymen toe te wijzen aan haar vestiging te Brugge. Dit impliceerde het ombouwen van de bestaande gistafdeling en het opzetten van een afdeling voor opwerking en eindformulering.

Sinds die tijd is er een systematische uitbreiding gekomen van de productie van industriële enzymen zoals alkalisch, hoog alkalisch en neutraal protease,  $\alpha$ -amylase, amyloglucosidase, glucose-isomerase, xylanase, invertase, cellulase ... , geïsoleerd uit diverse bacteriën, gisten en schimmels door toepassing van klassieke biotechnologie (mutagenese, fermentatie, down-stream processing). Deze enzymen vinden tal van toepassingen in de wasmiddelen-, de textiel- en de zetmeelverwerkende industrie.

Een mooi voorbeeld van de integratie van de moderne biotechnologie in de bestaande processen, betreft de ontwikkeling van Maxatase® - een alkalisch protease dat in waspoeders wordt gebruikt - tot Maxapem®, een proteïn engineered hoog alkalisch protease dat wordt gewonnen uit een genetisch gemanipuleerd micro-organisme (Intermezzo) .

Temeer daar IBIS gevestigd is in het hart van een stad, werd veel aandacht besteed aan de maatschappelijke omgeving, waarmee IBIS een nauwe relatie tracht te onderhouden. Daarom worden

regelmatig informatiedagen georganiseerd die zich specifiek richten tot de werknemers van het bedrijf, de omwonenden of het brede publiek. IBIS is er immers van overtuigd dat een gebrek aan kennis van de moderne biotechnologie (en daardoor een gevoel van onzekerheid) bij de consument aan de basis ligt van zijn terughoudendheid ten overstaan van toepassingen van de rDNA-technologie. Op deze wijze tracht IBIS aan de consument duidelijk te maken dat in deze sector een uitgesproken aandacht voor milieu, veiligheid en gezondheid goed te combineren valt met een efficiënte productie.

## **Corvas International**

Corvas International, de jongste telg in het Vlaams industrieel biotechnologisch landschap, is een veelbelovend high-tech bedrijf dat zich tot doel stelt nieuwe therapeutica te ontwikkelen voor de behandeling van trombose en aanverwante ziekten (cfr. intermezzo over bloedstolling bij Desiré Collen).

De eerste geneesmiddelen van biotechnologische origine waren natuurlijke eiwitten die via de rDNA-technologie voor het eerst op grote schaal konden worden geproduceerd. Bekende voorbeelden hiervan zijn insuline en t-PA (cfr. Desiré Collen). Hoewel deze producten ontegensprekelijk reeds hun groot nut bewezen hebben, kampen ze toch met het nadeel dat ze bij orale toediening alle activiteit verliezen, nog voor ze hun therapeutische functie kunnen vervullen. De huidige recombinante eiwitten kunnen dan ook enkel worden ingezet via de rechtstreekse inspuiting ervan in de bloedbaan. Dit impliceert echter dat hun toepassing beperkt is tot acute en/of levensbedreigende aandoeningen. Daartegenover staat dat de grootste markten voor de farmaceutische industrie zich nu juist situeren in het domein van de chronische aandoeningen, waar men aangewezen is op de orale toedieningsroute. Daarom wilde Corvas voor de ontwikkeling van zogenaamde "supergeneesmiddelen" de "gene jockey approach", gebaseerd op rDNA-technologie en proteïne engineering integreren met de synthetische chemie-aanpak van de klassieke farmaceutische industrie. Deze laatste zou het immers mogelijk maken geneesmiddelen te produceren voor orale toediening.

De geschikte voedingsbodem voor het verrichten van dit type van in se multidisciplinair onderzoek kon gecreëerd worden door de fusie van de proteïne engineering afdeling van het Gentse agro-biotechnologisch bedrijf PGS (cfr. hoger) met een bestaand bedrijfje uit San Diego (V.S.), dat reeds een drug design entiteit, gebaseerd op peptidechemie (synthese), had uitgebouwd. Uit deze fusie ontstond begin 1991 Corvas International.

Nog voor deze symbiotische fusie een feit was had de proteïne engineering groep van PGS, in die tijd enkel actief op industriële enzymen, reeds een farmaceutisch gericht onderzoeksproject gestart met Desiré Collen (cfr. hoger), gericht op de ontwikkeling van tweede en derde generatie trombolytica. Daarmee worden verbeterde opvolgers bedoeld van het door Collen ontdekte t-PA (cfr. hoger), bestemd voor het oplossen van zich reeds gevormde bloedklonters. Meer concreet zijn de onderzoekers van Corvas actief begaan met de ontwikkeling van chimere recombinante eiwitten die bvb. het katalytisch centrum van een urokinase-type plasminogeen activator (scu-PA) covalent zou verenigen met het fibrine-bindend domein van een fibrine-specifieke monoclonale antistof. Doel is hier de bloedklonter-specifieke activiteit van het huidige geneesmiddel (t-PA) nog te verbeteren.

Met het oog op een meer preventieve behandeling van patiënten met verhoogd risico tot thrombusvorming, richt Covas zijn onderzoek ook op 2 klassen van zogenaamde antitrombotische geneesmiddelen, die ongewenste bloedklontervorming kunnen voorkomen: nl. de anticoagulantia (anti-bloedstollingsmiddelen) en de bloedplaatjes inhibitoren. Deze laatste verhinderen de aggregatie van bloedplaatjes, waardoor een belangrijk facet van het bloedklonter-vormend proces wordt lam gelegd. Een eerste belangrijke realisatie van Corvas betreft de ontwikkeling van een monoclonaal antilichaam dat de binding blokkeert tussen twee bloedstollingsfactoren (factor VII en X) die betrokken zijn in de initiële stap van de bloedstollings-cascade (zie figuur). Deze zogenaamde receptor-antagonist leverde in in vitro en in vivo modelsystemen dusdanig positieve resultaten op dat



met dit antilichaam, dat de naam Corsevin™ meekreeg, reeds de eerste klinische testen op mensen werden aangevat.

Deze approach alleen volstaat echter niet voor Corvas. Dit bedrijf wil immers kleinere oraal toe te dienen moleculen ontwikkelen. Om deze toekomst voor te bereiden worden tegen de twee bovenvermelde stollingsfactoren VII en X - die beide hun rol in de bloedstollingscascade vervullen via hun enzymatische activiteit als serine protease – ook kleine enzym-inhibitoren ontwikkeld. De design en ontwikkeling van dergelijke inhibitor-moleculen is vooral gebaseerd op het ontwerpen van basismoleculen via computergestuurde design. Zodoende hebben de Corvas wetenschappers reeds modellen ontwikkeld van serine proteasen waardoor specifieke inzichten konden verkregen worden in de unieke karakteristieken van deze enzymen. Aldus werd het mogelijk selectieve inhibitoren als drugkandidaten voor te ontwerpen. Figuur N (foto) toont een inhibitor, gebonden in het actief centrum van een serine protease (wit). Door specifieke modificaties aan te brengen wordt de selectiviteit van de inhibitor vergroot. In dit laatste stadium kunnen structuurverwante peptiden - de zogenaamde peptido-mimetics - afgeleid worden. Deze kunnen dan langs chemische weg vervaardigd worden. Gebruik makend van deze strategie heeft Corvas vandaag de meest actieve en selectieve reeks van inhibitoren ter beschikking. Deze kunnen opnieuw op therapeutische activiteit in modelsystemen getest worden.

Als jong biotechnologisch bedrijf ligt het zwaartepunt van de activiteit van Corvas International nog volledig op het onderzoek doch de hoopvolle resultaten, het feit dat de eerste molecule zich reeds in fase 1 van de klinische studies bevindt en de recente notering van Corvas op de Amerikaanse beurs, die een royale kapitaalinjectie verzekerde, laten veronderstellen dat voor dit Vlaams initiatief een mooie toekomst is weggelegd.

#### **4. Epiloog**

Deze enkele voorbeelden illustreren de lezer hopelijk hoe Vlaanderen vanuit zijn cultuurhistorisch verleden van ambachtelijke biotechnologie is uitgegroeid tot een internationaal gereputeerde mededinger naar een plaats op de eretribune van de biotechnologische race. Daarbij kreeg Vlaanderen recent van de overheid nog een extra duwtje in de rug. Om zowel het basisonderzoek als de industriële initiatieven in de sector van de moderne biotechnologie te stimuleren werd in 1990 immers het Vlaams Actieprogramma Biotechnologie (VLAB) gelanceerd. Dit actieprogramma stelt ten behoeve van de universitaire en industriële onderzoekslaboratoria een totaal budget ter beschikking van 910 miljoen BF, gespreid over een periode van 5 jaar. In dit kader werden 9 universitaire "Emerging Technology Centres" uitgebouwd, waaronder o.m. de laboratoria 0.1. v. bovenvermelde tenoren zoals Walter Fiers, Marc Van Montagu, Herman Van Den Berghe, Christine Van Broeckhoven, Jozef Merregaert, Guido Volckaert, ... en werden 16 samenwerkingsprojecten tussen universiteit en industrie gestart. Deze laatste hebben tot doel de huidige academische kennis te vertalen naar toepasbare resultaten die op middellange termijn kunnen gevaloriseerd worden in Vlaanderen. Het feit dat deze projecten kunnen gisten in de rijke Vlaamse voedingsbodem die in dit artikel werd toegelicht, geeft deze projecten ongetwijfeld een kans te meer.

Jo Bury  
Operationeel Directeur Vlab  
6 juli 1992